

POTENSI METODE OPTIK UNTUK PENDUGAAN KANDUNGAN ANTOSIANIN PADA BUAH BLACK MULBERRY DAN STROBERI

J. Juansah, R.K. Ariyanti, Akhiruddin

Bagian Biofisika, Departemen Fisika, FMIPA, Institut Pertanian Bogor. Kampus IPB Dramaga, Bogor.

e-mail: j_juansah@yahoo.com

ABSTRACT

Estimation of pigment in plant tissues can be studied from optical properties. Reflectance spectra of optics signal on black mulberry and strawberry fruit have been studied for nondestructive estimation of anthocyanin pigment content. In addition, the absorbance spectra were also studied in fruit extracts with different solvent types, ie: a combined solution of tartaric acid and ethanol - chloric acid. The results showed that there is energy absorption for chlorophyll a in the blue area, i.e.: 465 nm- black mulberry and 478 nm-strawberry. While the energy absorption for chlorophyll b occurs in the red region with a wavelength of 650 nm (black mulberry) and 655 nm (strawberry). Maximum peak absorbance of anthocyanin pigments of black mulberry fruit with tartaric acid solvent had occurred at 515 nm. While for the solvent ethanol - hydrochloric acid has occurred at a wavelength of 519 nm.

Keywords: *anthocyanin, chlorophyll, optics method, absorbance spectra. relectrance spectra.*

ABSTRAK

Pendugaan pigmen yang terdapat pada jaringan tanaman dapat dikaji dari sifat optiknya. Spektra reflektansi pada buah black mulberry dan stroberi telah dikaji secara nondestruktif untuk menduga kandungan pigmen antosianin dan klorofil. Selain itu, spektra absorbans juga dikaji pada ekstrak buah dengan jenis pelarut yang berbeda (asam tartarat dan etanol-asam klorida). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada penyerapan energi untuk klorofil-a pada daerah warna biru (465 nm-black mulberry dan 478 nm-stroberi). Sedangkan penyerapan energi untuk klorofil b terjadi pada daerah merah dengan panjang gelombang 650 nm (black mulberry) dan 655 nm (stroberi). Puncak maksimum absorbans untuk pigmen antosianin buah black mulberry dengan pelarut asam tartarat telah terjadi pada 515 nm. Sedangkan pada pelarut etanol - asam klorida terjadi pada panjang gelombang 519 nm.

Kata kunci: *antosianin, klorofil, metode optik, spektra absorbans, spektra reflektans.*

PENDAHULUAN

Warna merupakan karakteristik penting bagi buah-buahan selama proses pematangan. Warna berkorelasi langsung dengan perubahan pigmen dan tingkat kematangan buah. Dalam hal ini, warna biasanya dapat

dijadikan acuan secara visual, walaupun tidak dapat diterapkan secara keseluruhan dalam menilai rasa semua buah. Sedangkan perubahan warna yang terjadi pada kulit buah berkolorasi terhadap perubahan kandungan pigmennya.

Kandungan pigmen yang terdapat pada jaringan tanaman baik secara kualitatif maupun kuantitatif tidak terlepas dari sifat optiknya. Estimasi kandungan pigmen dapat dilakukan secara destruktif ataupun nondestruktif. Sebagaimana diketahui secara umum bahwa karakteristik utama dari pigmen adalah adanya warna yang bisa dilihat. Selama kematangan, penyimpanan dan keadaan stress pigmen buah mengalami perubahan. Sehingga perubahan kandungan pigmen dapat dikaji dari setiap variasi tingkat kematangan, umur, dan keadaan buah.

Namun dalam hal itu, kandungan pigmen dari setiap variasi tingkat warna belum diketahui secara kuantitatif dengan jelas. Oleh karena itu, dibutuhkanlah teknik nondestruktif (kualitatif) untuk mengetahui dan mengestimasi kandungan pigmennya. Salah satu teknik yang dilakukan berupa uji karakteristik optik dengan spektroskopi reflektansi cahaya tampak pada berbagai tingkat warna dan kematangan. Persentase absorpsi dan reflektansi pada panjang gelombang tertentu dapat dijadikan kajian tertentu untuk menentukan kandungan pigment tersebut. Spektra reflektansi yang terjadi pada kulit buah dapat menunjukkan perubahan defisiensi nutrisi mineral, pencemaran, perbedaan kondisi stress hingga perbedaan terhadap irradiasi matahari.¹

Kematangan yang terjadi pada buah-buahan merupakan kombinasi pemutusan klorofil dan pembentukan karoten maupun antosianin. Klorofil dan antosianin merupakan salah satu pigmen penting yang dimiliki oleh tumbuhan tingkat tinggi yang terdapat di dalam jaringan dan sensitif terhadap keadaan fisiologi serta mengalami perubahan selama pertumbuhan. Kandungan klorofil berguna untuk menentukan jumlah PAR (photosynthetically active radiation) melalui daun, kecepatan fotosintesis dan produktivitas tanaman.¹

Sedangkan antosianin berguna sebagai pelindung buah dari radiasi matahari. Kondisi ini biasanya dijumpai pada buah-buahan, sayuran, dan bunga yang berwarna merah, biru, dan violet. Dari penelitian Sigit Ariatmoko,² diketahui bahwa reflektansi relatif buah tomat meningkat terhadap peningkatan umur tomat pada rentang gelombang merah, namun terjadi sebaliknya pada rentang panjang gelombang hijau. Melalui referensi tersebut, maka dilakukanlah penelitian lanjutan dengan objek yang berbeda. Adapun objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah Black Mulberry (*M. nigra* L.) dan Stroberi (*Fragaria Chiloensis*). Selain memiliki nilai ekonomis yang tinggi, buah stroberi memiliki aktivitas antioksidan tinggi karena mengandung *quecetin*, *ellagic acid*, *antosianin* dan *kaempferol*.³ Sedangkan pada buah Black Mulberry segar mengandung campuran tertentu jenis flavonoid cyanidin-3-glucoside (C3G)⁴ yang dapat larut dalam air sehingga sangat berkhasiat untuk menghancurkan sel kanker dan tumor ganas. Flavonoid adalah jenis campuran yang dihasilkan oleh tumbuhan secara alami, yang berfungsi sebagai antioksidan.

Secara kuantitatif telah diketahui sifat fisisnya namun korelasi antara in-vivo dengan eks-vivo belum dapat diketahui secara jelas. Sehingga kajian dalam penelitian ini lebih difokuskan kepada perubahan warna sebagai

estimasi dalam menentukan kandungan pigmen dalam buah tersebut. Adapun hasil yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai data acuan dalam menentukan kandungan pigmen dengan variasi tingkat warna.

Klorofil merupakan molekul hijau pada sel tumbuhan yang membawa dan mengatur sejumlah energi untuk proses fotosintesis. Klorofil menyerap spektrum cahaya elektromagnetik pada daerah biru dan merah, akan tetapi sangat sedikit menyerap pada daerah hijau. Pada buah yang masak, terjadi penurunan kandungan klorofil, sehingga menghasilkan absorpsi yang rendah dan lebih banyak merefleksikan, pada daerah 670 nm.⁵ Klorofil terdapat dalam kloroplas bersama-sama dengan karoten dan xantofil.⁶ Klorofil terbagi dua yaitu klorofil a dan klorofil b dengan perbandingan pada tanaman 1:3. Kandungan klorofil total pada tanaman sekitar 0,6-2%.⁷ Rumus molekul klorofil a adalah $C_{55}H_{72}N_4O_5Mg$ dan klorofil b adalah $C_{55}H_{70}N_4O_6Mg$. Puncak gelombang klorofil a dan b, terletak berturut-turut pada 630 nm dan 650 nm.⁸ Walaupun klorofil tidak larut dalam air, klorofil merupakan senyawa polar dengan tingkat kepolaran yang rendah.⁷ Dari hasil penelitian Marwan Mahmud, pelarut yang baik untuk mengekstrak klorofil adalah ethanol karena lebih mudah melarutkan klorofil dengan tetapan dielektrik 24% dengan polaritasnya yang besar.

Buah yang permukaan kulitnya berwarna merah biasanya banyak mengandung pigmen antosianin. Antosianin merupakan pigmen antioksidan aktif yang mampu melindungi tumbuhan dari radiasi cahaya tampak spektrum matahari.¹ Karakteristik koefisien kandungan antosianin pada daun segar terdapat pada kisaran panjang gelombang 500 nm dan 700 nm.¹ Aktivitas antioksidan pada uji in vitro oksidasi berkorelasi terhadap kandungan antosianin buah. Menurut hasil penelitian Sukarminah dan Natalia,⁹ pelarut yang baik untuk mengekstrak antosianin adalah aquades dengan asam tartarat 0,75%.

METODOLOGI

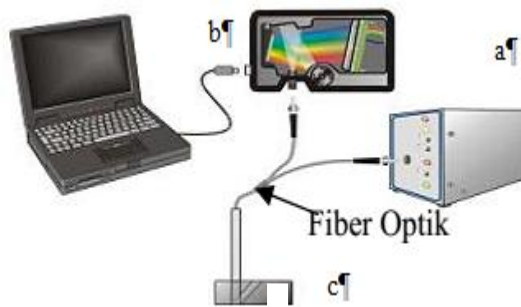
Sampel buah pada penelitian ini berasal dari perkebunan agrowisata stroberi (Dyno Land) Cisarua dengan kelembaban 85% dan suhu 25°C. Pengujian dilakukan di Lab. Biofisika, dan Lab. Kimia Analitik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Adapun jenis pelarut yang digunakan pada perlakuan untuk uji antosianin adalah aquades dan asam tartarat. Sedangkan pelarut untuk perbandingan digunakan gabungan etanol - asam klorida. Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari spektrometer fiber optik USB2000 (Gambar 1),¹⁰ cawan porselen berukuran 30 ml, oven, neraca analitik, labu erlenmayer, alat penyaring, kertas saring *whatman*, penjepit, gelas piala, botol-botol kecil, pipet tetes, kuvet, dan sudip.

Uji spektroskopi reflektans pada sampel langsung diambil melalui probe refleksi holder dengan sudut 90° terhadap permukaan kulit sampel. *Output* akan terbaca berupa spektrum gelombang dengan daerah panjang gelombang 380-780 nm. Pada uji spektroskopi absorbansi dilakukan pada ekstrak buah. Sampel yang digunakan telah mengalami perlakuan uji fisik estimasi antosianin. Sehingga sampel telah berbentuk larutan yang

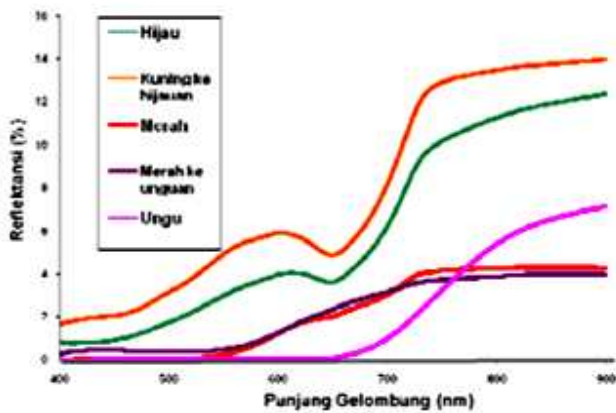
dimasukkan kedalam kuvet. Untuk antosianin menggunakan pelarut aquades dan asam tartarat maupun menggunakan pelarut ethanol dan HCl. Sebelum dilakukan uji optik, larutan telah mengalami perendaman selama 14 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

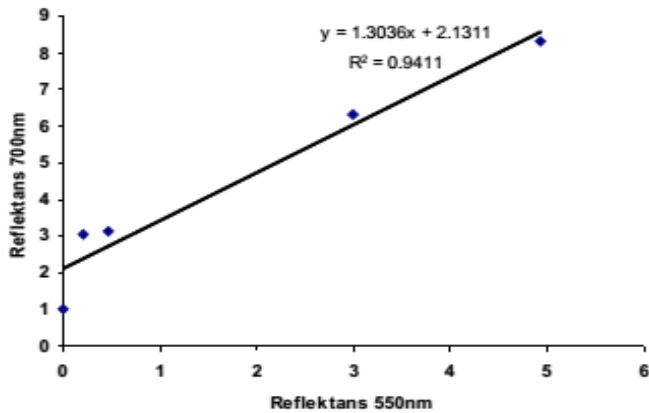
Spektra reflektans untuk penentuan kandungan pigmen pada black mulberry berbeda-beda untuk setiap tingkat warna kulit buahnya (Gambar 2). Pada daerah merah (620-750 nm), terjadi pita absorpsi klorofil a dan klorofil b. Hal ini dapat ditunjukkan melalui pita reflektans pada warna buah hijau dan hijau kekuningan yaitu pada panjang gelombang 650 nm. Pada daerah ini terjadi penyerapan klorofil b, yaitu reflektansinya menurun hingga membentuk lembah yang semakin landai (dari buah warna hijau, hijau kekuningan hingga merah). Akan tetapi pada buah warna merah-keunguan hingga ungu, panjang gelombang merah tidak diabsorbsi melainkan direfleksikan.



Gambar.1 Susunan alat pengukuran spektroskopi optik. a: sumber cahaya polikromatik; b: spektrometer, dan c: holder.



Gambar 2. Spektrum reflektans pada Black mulberry.



Gambar 3. Korelasi reflektans pada panjang gelombang 700 nm terhadap 550 nm untuk black mulberry.

Dapat diperhatikan pula bahwa pada buah warna merah terjadi transisi perubahan warna yang menyebabkan terjadinya pergeseran panjang gelombang reflektans. Pada buah warna merah terjadi perubahan kombinasi kandungan pigmen, dari pemutusan klorofil menjadi karotenoid hingga pembentukan antosianin. Jika dilihat dari persentase intensitas reflektans, pada panjang gelombang 700 nm kurva mengalami penurunan secara acak dari buah warna hijau kekuningan hingga merah.

Pita panjang gelombang yang tidak membentuk lembah atau lebih landai ketinggian puncaknya (Gambar 2) menunjukkan buah yang semakin masak. Ini menunjukkan semakin sedikit kandungan klorofilnya dan berbanding terbalik dengan kandungan antosianinnya. Analisis tersebut dapat dilihat pula melalui Gambar 3. Dari gambar tersebut didapatkan hubungan yang linear antara reflektansi pada panjang gelombang 550 nm dan 700 nm. Dimana koefisien determinasi korelasi reflektans 550 nm terhadap 700 nm lebih besar dari 0.94 ($r^2 = 0.94110$). Pada daerah biru (450-495 nm), terjadi penyerapan klorofil dan karotenoid. Pada daerah 465 nm terbentuk lembah yang sangat kecil yaitu pada buah warna hijau kekuningan. Ini merupakan daerah penyerapan klorofil a. Namun, pada buah warna hijau tidak terlihat jelas keberadaannya. Hal ini dikarenakan sampel black mulberry warna hijau yang diambil belum sepenuhnya berwarna hijau ketika pemetikan, namun masih tertutupi bulu-bulu halus yang menyelubungi kulit buah. Sehingga berpengaruh terhadap intensitas warna yang direfleksikan saat pengambilan data.

Sama halnya dengan karakteristik spektra pada stroberi. Gambar 4 menunjukkan bahwa pada daerah merah (620-750 nm) keteraturan pita reflektans dari buah warna hijau, hijau ke putihan, dan putih kekuningan mengalami absorpsi spektrum merah sehingga terbentuklah lembah yang semakin landai pada panjang gelombang 655 nm. Sedangkan pada pita reflektans buah warna kuning kemerahan hingga merah intensitas refleksinya besar sehingga tidak terbentuk lembah. Hal ini menunjukkan penyerapan klorofil b pada buah stroberi yang berwarna hijau, hijau keputihan, dan putih ke kuningan lebih besar jika dibandingkan dengan buah

stroberi berwarna kuning kemerahan dan merah. Ini menunjukkan kandungan klorofilnya lebih besar jika dibandingkan dengan kandungan antosianinnya. Lain halnya dengan pita reflektansi buah warna kuning kemerahan dan merah, kandungan antosianinnya lebih banyak daripada klorofilnya karena spektra reflektansinya menunjukkan adanya puncak reflektansi pada panjang gelombang 655 nm.

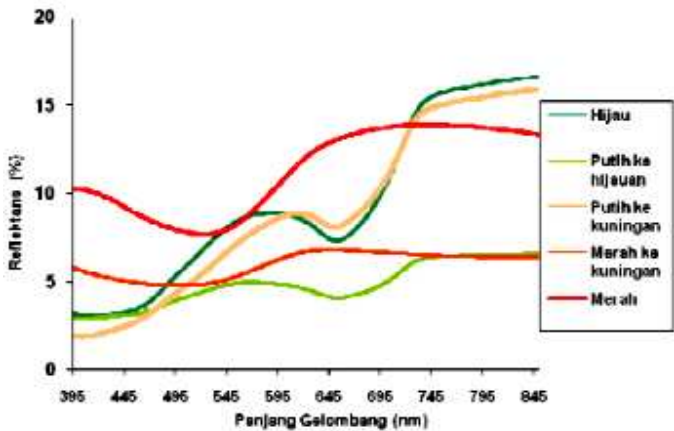
Terlihat jelas bahwa reflektansi dominan untuk buah warna kuning kemerahan hingga merah terjadi pada panjang gelombang 700 nm, yaitu terjadi pemantulan spektrum merah. Selain itu, kemiringan kurva setelah lembah dimana pada buah warna hijau, hijau keputihan, serta putih kekuningan semakin landai sehingga dapat diestimasi bahwa kandungan antosianin pada buah kuning kemerahan hingga merah lebih besar jika dibandingkan dengan buah warna hijau, hijau keputihan, dan putih kekuningan.

Hal ini juga diperkuat melalui Gambar 5 yang didapatkan hubungan linear antara reflektansi pada panjang gelombang 550 nm dan 700 nm dengan koefisien determinasi lebih besar dari 0.83 ($r^2 = 0.8381$). Pada daerah biru (450-495 nm), tepatnya sekitar daerah panjang gelombang 478 nm terjadi pemutusan klorofil dan pembentukan karotenoid pada pita hijau, hijau keputihan, hingga putih kekuningan. Sedangkan pada buah kuning kemerahan hingga merah penyerapan klorofil dan karotenoid mengalami penurunan, terlihat dari semakin landainya bentuk kurva, walaupun pada 478 nm bukan pusat lembahnya. Ini menyatakan kandungan karotenoid dan klorofil pada pita kuning kemerahan dan merah lebih sedikit jika dibandingkan kandungan antosianinnya.

Berdasarkan hasil ekstraksi antosianin, puncak spektrum absorbansi mengalami pergeseran panjang gelombang dari 507-520 nm. Gambar 6 menunjukkan bahwa persentase intensitas absorbansi mengalami peningkatan secara teratur dengan terbentuknya puncak panjang gelombang yang semakin curam. Pada panjang gelombang tersebut terjadi penyerapan antosianin. Puncak maksimum penyerapan antosianin terjadi pada 515 nm yang diwakilkan oleh buah warna ungu. Sedangkan pada daerah 507-520 nm buah warna hijau tidak mengalami puncak spektrum absorbansi, dikarenakan pada panjang gelombang tersebut sebagian besar spektrum cahaya warna hijau direfleksikan. Puncak mulai terlihat kembali pada buah warna kuning hingga ungu. Hal ini menandakan total kandungan antosianinnya semakin meningkat. Namun pada buah warna kuning, penyerapan antosianin masih minimum.

Gambar 7 menunjukkan perubahan intensitas absorbansi antara 380-780 nm untuk beberapa penggolongan warna buah black mylberry dengan pelarut asam klorida. Kurva spektrum yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan kurva hasil spektrum absorbansi untuk pelarut asam tartarat walaupun puncak setiap panjang gelombang mengalami pergeseran karena warna larutan yang dihasilkan tidak berbeda nyata dengan pelarut asam tartarat. Selain itu, Gambar 7 tidak dapat menyatakan kandungan klorofil secara kualitatif, karena pada daerah 680-720 nm tidak terbentuk puncak (peak) sehingga estimasi kandungan klorofil sulit dilakukan. Setiap pita pada penggolongan warna buah yang berbeda, mengalami puncak pada kisaran daerah 525-547 nm.

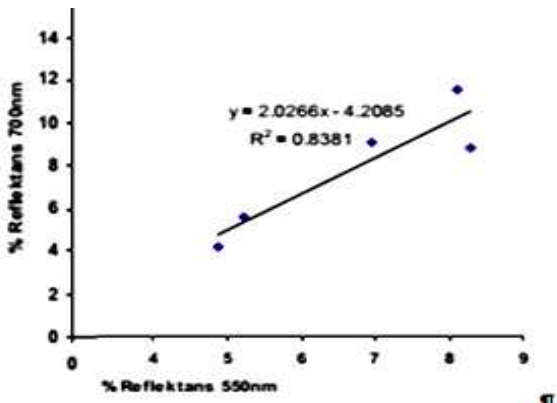
Pada kasus penelitian ini diukur juga nilai kromatisitas untuk komponen warna x dan y. nilai kromatisitas tersebut dikorelasikan dengan panjang gelombang dan perubahan warna pada buah. Hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.



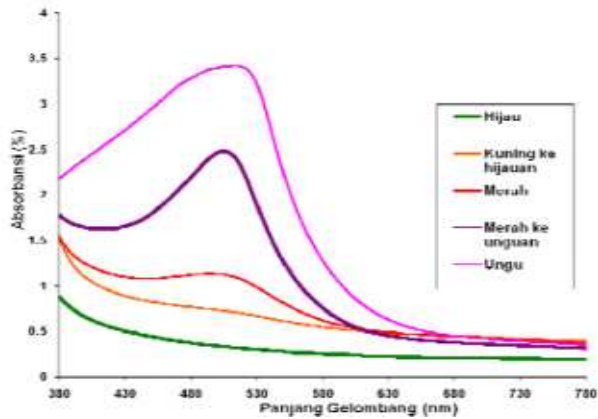
Gambar 4. Kurva spektrum reflektans pada stroberi.

Tabel 1. Nilai kromatisitas x dan y pada buah black mulberry

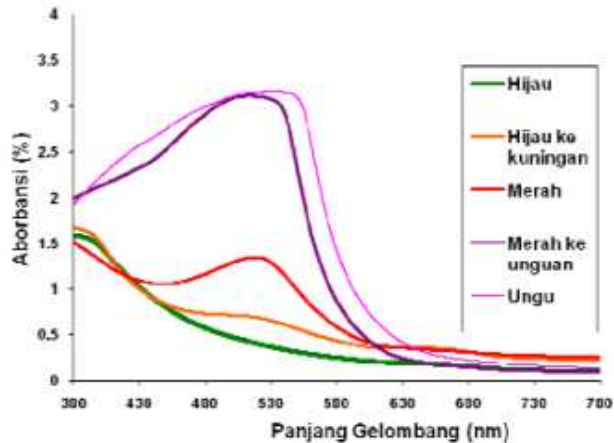
Warna buah	X	Y	λ (nm)
Hijau	0,524	0,432	585
Hijau kekuningan	0,499	0,431	586
Merah	0,632	0,359	593
Merah keunguan	0,580	0,364	600
Ungu	0,693	0,321	603



Gambar 5. Korelasi reflektans pada panjang gelombang 700 nm terhadap 550 nm untuk stroberi.



Gambar 6. Kurva spektrum absorbansi pada black mylberry dengan pelarut asam tartarat.



Gambar 7. Kurva spektrum absorbansi pada black mylberry dengan pelarut asam klorida.

SIMPULAN

Secara optik, estimasi kandungan antosianin dan klorofil dapat ditunjukkan melalui persentase intensitas reflektansi pada panjang gelombang tertentu. Kandungan antosianin buah black mulberry dan stroberi meningkat pada panjang gelombang 500 nm dan 700 nm. Pada daerah biru terjadi penyerapan klorofil a dengan pada panjang gelombang 465 nm (buah black mulberry) dan 478 nm (buah stroberi) sedangkan penyerapan klorofil b terjadi pada daerah merah dengan panjang gelombang 650 nm (buah black mulberry) dan 655 nm (buah stroberi).

DAFTAR PUSTAKA

1. Merzylak, et al. Reflectance Spectral Features and Non-Destructive Estimation of Chlorophyll, Carotenoid and Anthocyanin Content in Apple Fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 2003. 197-211
2. Sigit Ariatmoko. Uji Karakteristik Optik Buah Tomat dengan Spektroskopi Reflektansi VIS-NIR. Institut Pertanian Bogor. 2005. Bogor
3. Supriatin Budiman. Berkebun Stroberi secara komersial. Penebar Swadaya. 2006. Jakarta.
4. Lukton, A., et al. Characterisation of a second pigment in strawberries (*Fragaria vesca*). *Nature*. London. 1955. 176:790.
5. Mohsenin NN. Elektromagnetic radiation Properties of Food and Agricultural Pruduct. Gordon and breach science publisher. 1984. New York.
6. F.G Winarno. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama. 1997. Jakarta.
7. Marwan Mahmud.. Pemurnian Klorofil Daun Suji (*Pleomete angustifolia* N. E Brown). Institut Pertanian Bogor. 1994. Bogor
8. J.B Harborne. Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganaliss Tumbuhan. Terbitan Kedua. Bandung : Institut Teknologi Bandung. 1987. Bandung
9. Een S, Dita N. Ekstraksi Pewarna Alami dari Buah arben (*Rubus ideus* Linn) dan Aplikasinya Pada Sistem Pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 2007. Vol. XVIII. 1
10. USB2000 Fiber Optic Spectrometer Installation and Operation Manual [http:// www.oceanoptics.com/products/usb2000](http://www.oceanoptics.com/products/usb2000)